#### IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re	U.S. Patent Application of	)
Naka	o .	)
Appli	ication Number: To be Assigned	)
Filed	: Concurrently Herewith	)
For:	FUNCTIONAL BEADS, METHOD FOR READING THE SAME AND BEAD-READING APPARATUS	)
ATTO	DRNEY DOCKET NO. HIRA.0134	)

Honorable Assistant Commissioner for Patents
Washington, D.C. 20231

# REQUEST FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. § 119 AND THE INTERNATIONAL CONVENTION

Sir:

In the matter of the above-captioned application for a United States patent, notice is hereby given that the Applicant claims the priority date of January 23, 2003, the filing date of the corresponding Japanese patent application 2003-014379.

A certified copy of Japanese patent application 2003-014379 is being submitted herewith. Acknowledgment of receipt of the certified copy is respectfully requested in due course.

Respectfully submitted,

Stanley P. Fisher

Registration Number 24,344

Registration Number 34,072

Juan Carlos A. Marquez

REED SMITH LLP

3110 Fairview Park Drive Suite 1400 Falls Church, Virginia 22042 (703) 641-4200 January 14, 2004

#### (Translation)

## PATENT OFFICE JAPANESE GOVERNMENT

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

Date of Application:

January 23, 2003

**Application Number:** 

Japanese Patent Application

No. 2003-14379

Applicant(s):

HITACHI SOFTWARE ENGINEERING CO., LTD.

October 24, 2003

Commissioner, Patent Office

Yasuo IMAI (seal)

Certificate No. 2003-3088256



### 日本国特許庁 JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 Date of Application:

2003年 1月23日

出願番号 Application Number:

特願2003-014379

[ST. 10/C]:

[JP2003-014379]

出 願 人
Applicant(s):

日立ソフトウエアエンジニアリング株式会社

2003年10月24日

特許庁長官 Commissioner, Japan Patent Office 今井康



【書類名】 特許願

【整理番号】 14A099

【提出日】 平成15年 1月23日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C12Q 1/68

【発明の名称】 機能性ビーズ、その読み取り方法および読み取り装置

【請求項の数】 14

【発明者】

【住所又は居所】 東京都品川区東品川4丁目12番7号 日立ソフトウエ

アエンジニアリング株式会社内

【氏名】 中尾 素直

【特許出願人】

【識別番号】 000233055

【氏名又は名称】 日立ソフトウエアエンジニアリング株式会社

【代理人】

【識別番号】 100091096

【弁理十】

【氏名又は名称】 平木 祐輔

【選任した代理人】

【識別番号】 100102576

【弁理士】

【氏名又は名称】 渡辺 敏章

【選任した代理人】

【識別番号】 100103931

【弁理士】

【氏名又は名称】 関口 鶴彦

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 015244

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】

明細書 1

【物件名】

図面 1

【物件名】

要約書 1

【包括委任状番号】 9722155

【プルーフの要否】

要

#### 【書類名】 明細書

【発明の名称】 機能性ビーズ、その読み取り方法および読み取り装置 【特許請求の範囲】

【請求項1】 表面にコート層を有するビーズの該コート層中にナノ粒子が存在することを特徴とする機能性ビーズ。

【請求項2】 前記ビーズが、ガラス、シリカゲル、ポリスチレン、ポリプロピレン、メンブレン、磁性体から選ばれたビーズであることを特徴とする請求項1に記載の機能性ビーズ。

【請求項3】 前記コート層が、金属アルコシドを脱水縮合反応させたものであることを特徴とする請求項1または2に記載の機能性ビーズ。

【請求項4】 前記ビーズがプラスチックであり、前記コート層がビニル化合物を重合させたものであることを特徴とする請求項1ないし3のいずれかに記載の機能性ビーズ。

【請求項5】 前記ナノ粒子が、金属ナノ粒子、半導体ナノ粒子または金属化合物ナノ粒子の1種以上であることを特徴とする請求項1ないし4のいずれかに記載の機能性ビーズ。

【請求項6】 表面にコート層を有するビーズの該コート層中にナノ粒子が存在する機能性ビーズを流路に導き、該流路において該機能性ビーズに電圧を印加することにより該ナノ粒子特有の波長の光を発光させ、該発光から該機能性ビーズを識別するビーズ読み取り方法。

【請求項7】 表面にコート層を有するビーズの該コート層中にナノ粒子が存在する機能性ビーズを通過させる流路、該流路の途中に設けられた1対の電極、該電極に電圧を印加する電源、該電極から電圧を印加された該機能性ビーズからの発光を捉える受光素子を有するビーズ読み取り装置。

【請求項8】 表面にコート層を有するビーズの該コート層中にナノ粒子が存在する機能性ビーズを流路に導き、該流路において該機能性ビーズに電磁波を照射することにより該ナノ粒子特有の波長の光を発光させ、該発光から該機能性ビーズを識別するビーズ読み取り方法。

【請求項9】 表面にコート層を有するビーズの該コート層中にナノ粒子が

存在する機能性ビーズを通過させる流路、該流路の途中に設けられた電磁波源、 該電磁波源に照射された該機能性ビーズからの発光を捉える受光素子を有するビ ーズ読み取り装置。

【請求項10】 前記機能性ビーズを磁力により流路を通過させるための磁石ベルトを有する請求項7または9に記載のビーズ読み取り装置。

【請求項11】 表面にコート層を有するビーズの該コート層中にナノ粒子が存在する機能性ビーズの表面に生体高分子が固定されたことを特徴とする機能性ビーズ。

【請求項12】 請求項11に記載の機能性ビーズの存在下に、前記生体高分子と他の生体高分子を特異的に反応させ、前記特異的反応を前記機能性ビーズを識別することを特徴とする機能性ビーズ読み取り方法。

【請求項13】 前記特異的反応が、ハイブリダイゼーション反応、核酸増幅反応または抗原抗体反応であることを特徴とする請求項12に記載の機能性ビーズ読み取り方法。

【請求項14】 請求項7、9または10に記載のビーズ読み取り装置を有することを特徴とするフローサイトメータ。

#### 【発明の詳細な説明】

[0001]

#### 【発明の属する技術分野】

本発明は容易に識別され種々の機能を有するビーズ、該ビーズを識別する読み取り方法および読み取り装置に関する。

[0002]

#### 【従来の技術】

従来、ビーズを核酸検出に用いることが知られている。また、下記特許文献1には、蛍光マイクロビーズを免疫測定に用いることが開示されている。生体高分子間の特異的な反応のサイトとなったマイクロオーダーサイズのビーズは、有機溶媒中で染色し、蛍光顕微鏡やフローサイトメータでビーズの読み取りや識別を行っていた。しかしながら、ビーズの識別化は容易ではなく、特に数十種から数万種の多数のビーズを正確かつ容易に識別することは困難であった。また、励起

にレーザ等の光源を利用し、蛍光を読み取る場合は、光の漏れこみが発生し、バックグランドは0にはならず、正確な読み取りが行えないという問題があった。

#### [0003]

一方、半導体ナノ粒子や金属ナノ粒子等のナノオーダーの粒子が有機系色素に変わる標識手段として注目されている。本発明において、ナノ粒子とは一般に量子ドット、又はナノドットと呼ばれる10 n m以下の粒径を有する粒子であれば良い。好ましくは1~5 n mのサイズであるが、ナノ粒子を形成する材料の種類は、金、銀、パラジウム、銅等の金属、元素半導体(Si,Ge等)や化合物半導体(GaAs,CdS等)の半導体、酸化チタン、酸化錫等の金属酸化物やカルコゲナイド等が知られている。

#### [0004]

半導体ナノ粒子を例にすると、粒径が10nm以下の半導体ナノ粒子は、バルク半導体結晶と分子との遷移領域に位置することから、いずれとも異なった物理化学特性を示す。このような領域では、量子サイズ効果の発現により、粒径の減少に伴って半導体ナノ粒子のエネルギーギャップが増大する。さらにこれに付随して、バルク半導体で見られたエネルギーバンドの縮退が解け軌道が離散化し、伝導帯下端が負側に、価電子帯上端が正側にシフトする。

#### [0005]

半導体ナノ粒子の製造方法は、CdおよびX(XはS,Se,Te)の前駆体を等モル量溶解することで簡単に調製することができる。これらは、CdSe,ZnS,ZnSe,HgSe,PbS,PbSeなどにおける製造についても同様である。しかし、前記方法により得られた半導体ナノ粒子は、広い粒径分布を示すため、半導体ナノ粒子の特性を十分に利用することができない。このため、調製直後の広い粒径分布を有する半導体ナノ粒子から、化学的手法を用いて粒径分離を精密に行い、特定の粒子サイズの半導体ナノ粒子のみを分離・抽出することで単分散化することが試みられている。これまでに、ナノ粒子の有する表面電荷が粒径によって変化することを利用した電気泳動分離法、粒径による保持時間の差を利用した排除クロマトグラフィー、粒子サイズの違いによる有機溶媒中への分散性の差を利用したサイズ選択沈殿法があり、これらの手法とはま

ったく異なる方法として、半導体ナノ粒子溶液への単色光照射により粒径制御を 行うサイズ選択光エッチング法などが報告されている。以上のような方法により 得られた半導体ナノ粒子は、比較的波長幅の狭いピークを持つスペクトルを示す

#### 【特許文献1】

特開平6-300763号公報

[0006]

#### 【発明が解決しようとする課題】

マイクロオーダーのビーズを介在させた生物的に特異な反応は今後その重要性を増すものであり、その有用性のためにも容易にビーズを識別化する技術の開発が求められる。特に数十種から数万種の多数のビーズを正確かつ容易に識別することができれば、ビーズの有用性は倍増する。また、励起にレーザ等の光源を利用し、蛍光を読み取る場合には、光の漏れこみが発生し、バックグランドを0として、正確な読み取りを行うことが出来なかった。

#### [0007]

#### 【課題を解決するための手段】

本発明者は鋭意研究した結果、ビーズの表面に特定のコート層を設けた機能性ビーズを用いることで上記課題を解決した。

即ち、第1の本発明は、表面にコート層を有するビーズの該コート層中にナノ 粒子が存在することを特徴とする機能性ビーズである。

#### [0008]

本発明で言うビーズとは、ガラス、プラスチック、セラミックス、磁性体製等の直径100ミクロン以下、例えば数ミクロン程度の微小粒子であり、マイクロスフィアとも呼ばれているものである。本発明では、ビーズは限定されず、ガラス、シリカゲル、ポリスチレン、ポリプロピレン、メンブレン、磁性体から選ばれたビーズが好ましく例示される。

#### [0009]

前記コート層としては、チタンアルコキシド、ケイ素アルコキシド等の金属アルコシドを脱水縮合反応させたものが好ましく例示される。また、前記ビーズが

プラスチックである場合には、前記コート層がビニル化合物を重合させたものであることができる。

#### [0010]

本発明で言うナノ粒子とは、一般に量子ドット、又はナノドットと呼ばれる10 n m以下の粒径を有する粒子であれば良い。好ましくは1~5 n mのサイズであるが、ナノ粒子を形成する材料の種類や目的とする機能によっても異なるため一概に限定されない。また、ナノ粒子を構成する材料は特に限定するものではない。例えば、金属としては、金、銀、パラジウム、銅等、半導体としては、元素半導体(Si,Ge等)や化合物半導体(GaAs,CdS等)等、金属化合物としては、酸化チタン、酸化錫等の金属酸化物やカルコゲナイドなど公知のものが挙げられる。

#### [0011]

特に、半導体ナノ粒子は材料、粒径によって特有の蛍光を発光するので好ましい。具体的には、ZnO、ZnS、ZnSe、ZnTe、CdO、CdS、CdSe、CdTe、HgS、HgSe、HgTe、InP、InAs、GaN、GaP、GaAs、TiO2、WO3、PbS、又はPbSe等が好ましく例示される。

これらナノ粒子は1種類を用いることもできるが、2種以上用いることによって多数の機能性ビーズを識別することが可能となるので好ましい。

#### [0012]

本発明の機能性ビーズは、例えばガラスビーズに金属アルコシドをコーティングする際に機能性粒子である半導体ナノ粒子等のナノ粒子を同時に添加し、その後に加熱することで金属アルコシドの脱水縮合反応を起こし、ガラスビーズ表面上にナノ粒子が存在するコート層を有する機能性ガラスビーズを製造することが出来る。

#### [0013]

本発明において、多数の機能性ビーズを識別する原理を具体例を示して説明する。まず、2種類の蛍光波長の異なる半導体ナノ微粒子(4.2 n mの粒径と5.5 n mの粒径)を用意し、ポリスチレンビーズ( $0.1 \mu \sim 1.0.0 \mu \text{ m}$ の範囲内

で特に 1 μ m ~ 1 0 μ m の粒径が望ましい)に結合する。この際のビーズの材料及び結合方法は特に問わない。ここでは、2種類の蛍光試薬として半導体ナノ微粒子の混合比を変えて溶媒に溶解した状態で、ポリスチレンビーズに染色する。

#### [0014]

図1は、半導体ナノ微粒子の混合割合と、発光される蛍光強度との関係を示す図である。粒径が4.2 n mの半導体ナノ微粒子と粒径が5.5 n mの半導体ナノ微粒子とを混合する。その混合割合を(10:1)から(10:7)までに変えて、それぞれポリスチレンビーズA~Gを染色する。ビーズA(4.2 n m 半導体ナノ微粒子:5.5 n m 半導体ナノ微粒子=10:1)とビーズB(10:2)についてフローサイトメータで測定した結果を示す。4.2 n m 半導体ナノ微粒子に相当する570 n mの波長における光強度ピークはA、Bの両者ほとんど同じであるが、5.5 n m 半導体ナノ微粒子に相当する625 n m の波長の光強度ピークは、ビーズAに対してビーズBは570 n m の光強度ピークに対する相対強度がほぼ2倍となっている。このように570 n m の光強度ピークに対する625 n m の光強度ピークの相対強度をシグナルとして、どのビーズであるかの識別を行うことができる。

#### [0015]

本発明の機能性ビーズにおいて、表面コート層はほぼ透明であるので、表面コート層中にナノ粒子は埋没していても良く、コート層表面からナノ粒子が部分的に表出して存在しても良い。

#### [0016]

第2に、本発明は、表面にコート層を有するビーズの該コート層中にナノ粒子が存在する機能性ビーズを流路に導き、該流路において該機能性ビーズに電圧を印加することにより該ナノ粒子特有の波長の光を発光させ、該発光から該機能性ビーズを識別するビーズ読み取り方法である。これは、上記第1の本発明の機能性ビーズが電圧を印加することにより該ナノ粒子特有の波長の光を発光する物性を利用するものである。

#### [0017]

第3に、本発明は、表面にコート層を有するビーズの該コート層中にナノ粒子

が存在する機能性ビーズを通過させる流路、該流路の途中に設けられた1対の電極、該電極に電圧を印加する電源、該電極から電圧を印加された該機能性ビーズからの発光を捉える受光素子を有するビーズ読み取り装置である。

#### [0018]

図2にビーズが搬送される際に発光を行うメカニズムを示す。図2(a)において、ビーズ2およびビーズ3は流路1を矢印の方向に流れて来る。流路の途中に1対の電極4が設けられている。電極4には電圧発生装置5より所定の電圧が印加されている。ここで、ビーズ2の粒径よりも電極間の位置を小さくすることにより、ビーズの表面に電極が確実に接触するように設定する。流路の幅や電極間の幅は使用するビーズの粒径に依存するが、おおむね流路の幅はビーズの粒径の3倍以上、電極間の幅は3分の2以下が好ましい。電極4は板状で薄く、ビーズの搬送経路側に可動するように斜めに設置するのが好ましい。図2(b)において、両電極4に先頭のビーズ2が接触した際にビーズ2の表面に電気が流れ、ビーズ表面の半導体ナノ粒子が発光する。図2(c)において、先頭のビーズが電極を通過した後、次のビーズ3が電極4に接触し、同様にビーズ表面の半導体ナノ粒子が発光する。

#### [0019]

発光したビーズは図3に示すRGBのカラーフィルターを備えたフォトダイオード6で光の色を判別するとともに、各色の強度を数値化することができる。これら数値は画像処理装置7で処理される。フォトダイオード6は色センサーとして機能することでビーズの色を識別することを可能とすることが出来る。また、完全な暗闇で、交流、直流問わずに電圧を印加し、ビーズの発光を行うことでバックグランドを0にすることができる。

#### [0020]

第4に、本発明は、表面にコート層を有するビーズの該コート層中にナノ粒子が存在する機能性ビーズを流路に導き、該流路において該機能性ビーズに電磁波を照射することにより該ナノ粒子特有の波長の光を発光させ、該発光から該機能性ビーズを識別するビーズ読み取り方法である。これは、上記第1の本発明の機能性ビーズに電磁波を照射することにより該ナノ粒子特有の波長の光を発光する

物性を利用するものである。例えば、各種半導体ナノ粒子には紫外線レーザを照射することにより特有の波長の蛍光が見られることが知られている。この他、白色発光ダイオードやハロゲンランプ等の光を照射して、ナノ粒子からの反射光を読み取っても良い。

#### [0021]

第5に、本発明は、表面にコート層を有するビーズの該コート層中にナノ粒子が存在する機能性ビーズを通過させる流路、該流路の途中に設けられた電磁波源、該電磁波源に照射された該機能性ビーズからの発光を捉える受光素子を有するビーズ読み取り装置である。

#### [0022]

図4にビーズ表面のナノ粒子の蛍光強度を読み取るための装置概要を示す。流路1を矢印方向に流れるビーズ2に白色LED8より白色光を照射して、ビーズ表面に存在する半導体ナノ粒子を励起し、半導体ナノ粒子からの蛍光を光ファイバー9でフォトダイオード6に導く。図3と同じくRGBのカラーフィルターを備えたフォトダイオード6で光の色を判別するとともに、各色の蛍光強度を数値化することができる。これら数値は画像処理装置7で処理される。フォトダイオード(色センサー)は、蛍光を測定するために周囲の色に曝されない部分に設置する。また、この装置はビーズの蛍光だけでなく、反射光や錯乱光も感知するために、流路の測定部分をビーズが通過したかどうかを確認すると同時に、ビーズの粒径も反映するために、ビーズの粒径を測定することも可能となる。

#### [0023]

磁性体のビーズ10を用いた場合には、図5に示すように、上記の各ビーズ読み取り装置の流路1に沿って機能性ビーズを磁力により流路を通過させるための磁石ベルト11を有することもできる。機能性ビーズをフローさせる手段に磁力を用いることにより、微小なビーズでもスムースにフローさせることができる。

#### [0024]

第6に、本発明は、表面にコート層を有するビーズの該コート層中にナノ粒子が存在する機能性ビーズの表面に生体高分子が固定されたことを特徴とする機能性ビーズである。ここで、生体高分子とは、タンパク質、ポリアミノ酸、DNA

、RNA、合成高分子等の1種以上である。このような生体高分子が固定されたことを特徴とする機能性ビーズはイオン性高分子同定用高分子チップ、DNAチップ等のバイオチップとして用いられる。特に、機能性ビーズの表面に固定された第1のDNAに、第2のDNAを相補的に結合させて二重鎖DNAを有するプローブとしたDNAチップが好ましく例示される。

#### [0025]

4 (c)

第7に、本発明は、上記第6の本発明の機能性ビーズの存在下に、前記生体高分子と他の生体高分子を特異的に反応させ、前記特異的反応を前記機能性ビーズを識別することを特徴とする機能性ビーズ読み取り方法である。ここで、特異的反応としては、ハイブリダイゼーション反応、核酸増幅反応または抗原抗体反応等が好ましく例示される。

#### [0026]

上記の他に、本発明の機能性ビーズを用いて、特異的反応を行うことができる。例えば、コート層材料として金属アルコシドを使用し、ゾルゲル法にて対象とする生体分子のインプリンティングをビーズ表面上で行い、ビーズ表面上で目的分子をトラップすることを可能とすることが出来る。

#### [0027]

第8に、本発明は、上記の各ビーズ読み取り装置を有することを特徴とするフローサイトメータである。上記の各ビーズ読み取り装置をフローサイトメータとして組み込むことにより、装置を大型化することなく高い識別性を得ることができる。

#### [0028]

#### 【実施例】

ビーズの表面に金属アルコシドでコートする際に、発光物質として半導体ナノ粒子を添加する。RGBの光の3原色として、R(赤)にCdSe(波長700 nm)、G(緑)にGaP(波長550nm)、B(青)にCdS(波長490nm)を使用する。目的とする色に応じて、それぞれの半導体粒子を添加する量を調整することで様々な色のビーズの製造を行う。

#### [0029]

Nucleic Acid Research, 2000, Vol. 28, No 2, e5によると $3.1\mu m$  CPG beads: Control Pole Glass (CPG Inc.) を使用してガラスビーズ上にDNAプライマーを貼り付けて、ガラスビーズ上でPCRを行っている。しかし、通常のガラスビーズだと、ビーズ上に異なるプライマーを結合したとしてもビーズでは区別がつかないため、区別するために何らかの方法でビーズを識別する必要性があった

#### [0030]

そこで、本実施例では、ガラスビーズ表面を金属アルコシドである $Ti(OC_2H_5)_4$ と水( $H_2O$ )を加えて加水分解を行い、反応性モノマーである( $C_2H_5O$ )  $_3TiOH$ を生成し、ガラス表面をコートする。この際に機能性の粒子として半 導体粒子CdSを混入する。半導体ナノ粒子であるCdSのバンドギャップは 2.53eVで

 $E = h \nu = h c / \lambda = 1 2 3 9 . 8 / \lambda$ 

(ここで、 $h(プランク定数)=6.626\times10^{-34}[ジュール・秒]、Cは光の速度、<math>\nu$ は振動数、 $\lambda$ は波長)より、CdS半導体は励起すると490 nm(青色)で発光する。

#### [0031]

CdS半導体を混ぜ込む量を調整することで、発光強度を調節することが可能である。また、他の種類の半導体粒子をまぜることで発光する色を変えることも可能である。

これら電気発光でビーズの識別が可能になるため、例えば、塩基配列の異なる DNAを発光色の異なる機能性ビーズに貼り付けることで識別が可能になる。

#### [0032]

#### 【発明の効果】

本発明により、ビーズの識別を容易にするとともに、読み取り感度を向上させることが出来る。また、共焦点レーザ顕微鏡やフローサイトメータといったレーザを搭載した装置は値段も高価で、装置も大きい。本発明の電圧を印加することによる発光では、読み取り感度を向上すると同時にレーザを搭載する必要がないため、安価でコンパクトな装置を提供可能とする。

#### 【図面の簡単な説明】

#### [図1]

半導体ナノ微粒子の混合割合と、発光される蛍光強度との関係を示す図。

#### 【図2】

流路の中をビーズが流れる際に端子部分とビーズの接触を説明する図。

#### 【図3】

受光素子を用いてビーズの発光を読み取る装置の模式図。

#### 【図4】

ビーズの蛍光を読み取る装置の模式図。

#### 【図5】

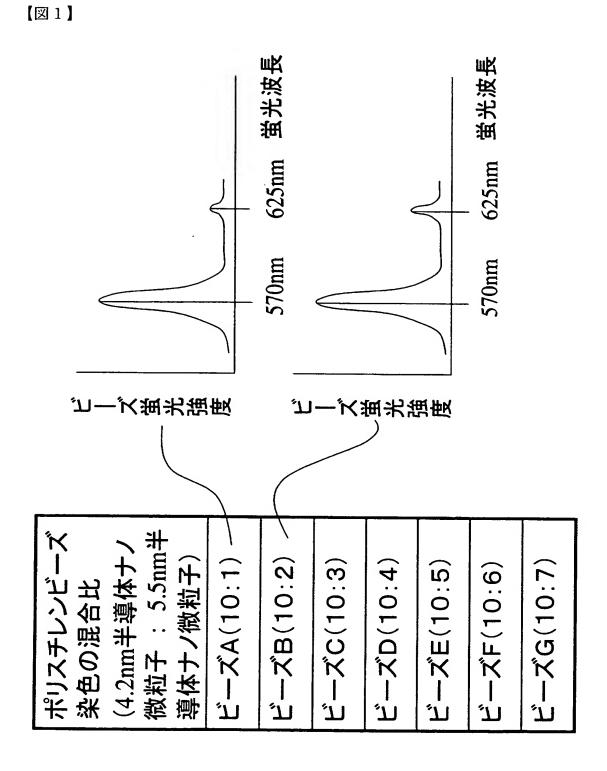
流路の中を磁力を利用してビーズが流れることを説明する図。

#### 【符号の説明】

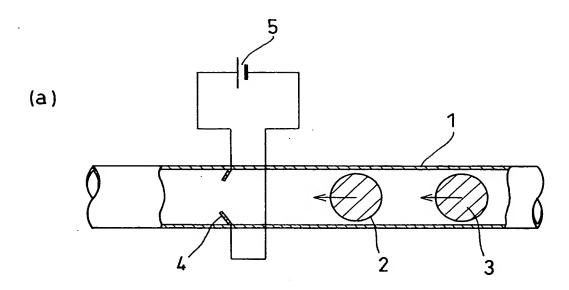
1:流路、2:機能性ビーズ、3:機能性ビーズ、4:電極、5:電圧発生装置、6:フォトダイオード、7:画像処理装置、8:白色LED、9:光ファイバー、10:磁性体ビーズ、11:磁石ベルト。

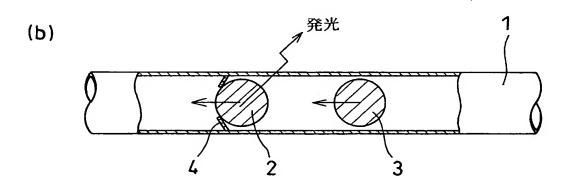
【書類名】

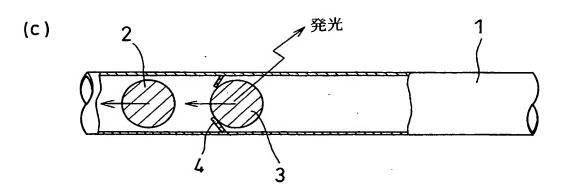
図面



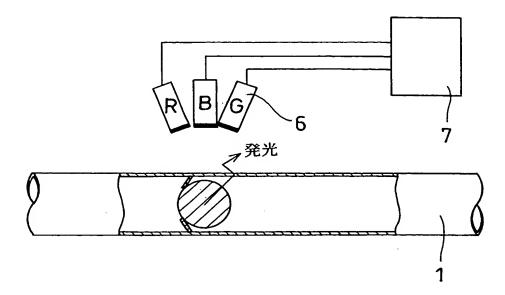




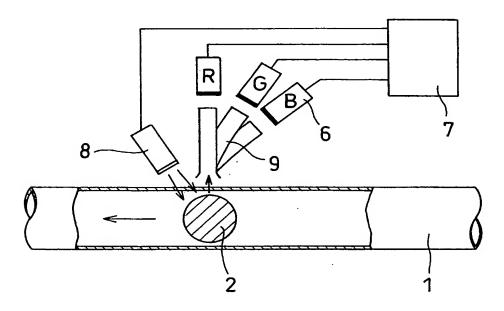




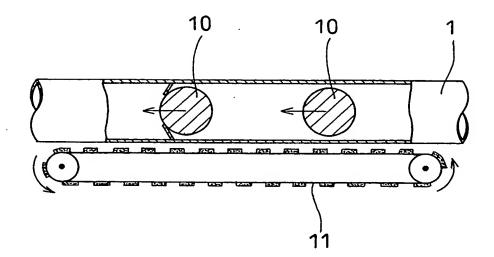
【図3】



【図4】



【図5】



【書類名】 要約書

#### 【要約】

【課題】 通常の蛍光ビーズはレーザで励起し、蛍光を読み取るため、光の洩れ こみがおこり、ノイズの影響が無視できなかった。

【解決手段】 表面にコート層を有するビーズの該コート層中にナノ粒子が存在 する機能性ビーズを流路に導き、該流路において該機能性ビーズに電圧を印加す ることにより該ナノ粒子特有の波長の光を発光させ、該発光から該機能性ビーズ を識別するビーズ読み取り方法、および読み取り装置。

【選択図】 図2

#### 特願2003-014379

#### 出願人履歴情報

#### 識別番号

[000233055]

1. 変更年月日

1990年 8月 7日

[変更理由]

新規登録

住 所 名

神奈川県横浜市中区尾上町6丁目81番地日立ソフトウエアエンジニアリング株式会社

2. 変更年月日

2002年10月11日

[変更理由]

住所変更

住 所 名

神奈川県横浜市鶴見区末広町一丁目1番43日立ソフトウエアエンジニアリング株式会社